

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平3-251153

⑬ Int. Cl.⁵

A 23 L 1/305
1/48
A 61 K 37/18

識別記号

A B J

庁内整理番号

8114-4B
8114-4B
8615-4C

⑭ 公開 平成3年(1991)11月8日

審査請求 未請求 請求項の数 8 (全15頁)

⑮ 発明の名称 栄養補給組成物

⑯ 特 願 平2-50411

⑰ 出 願 平2(1990)2月28日

⑱ 発 明 者 郡 英 明 徳島県板野郡北島町北村字宅町四反地85-23

⑲ 発 明 者 松 原 大 福岡県久留米市長門石3-10-24-508号

⑳ 発 明 者 藤 井 康 弘 福岡県久留米市東櫛原町444 エステイム・アン櫛原210号

㉑ 発 明 者 上 野 裕 文 福岡県久留米市長門石3-11-21 レジデンス鸛原406号

㉒ 出 願 人 大塚製薬株式会社 東京都千代田区神田司町2丁目9番地

㉓ 代 理 人 弁理士 三枝 英二 外2名

明 細 書

発明の名称 栄養補給組成物

特許請求の範囲

① とうもろこしタンパク質を酵素で加水分解して得られる分子量200~4000のペプチドを含有し、アミノ酸組成において芳香族アミノ酸が全アミノ酸に対して3.6モル%以下であるペプチド含有物質を乾燥重量基準で5~20重量%含有する組成物であって、該組成物における蛋白源としての全窒素化合物、炭水化物及び脂質の含有量が、乾燥重量基準で、窒素化合物15~40重量%、炭水化物50~70重量%及び脂質0~15重量%であることを特徴とする栄養補給組成物。

② 肝疾患患者用栄養補給組成物である請求項①に記載の組成物。

③ 筋ジストロフィー疾患患者用栄養補給組成物である請求項①に記載の組成物。

④ 生体侵襲時用栄養補給組成物である請求項①に記載の組成物。

⑤ ペプチド含有物質のアミノ酸組成において分枝鎖アミノ酸/芳香族アミノ酸のモル比が10以上である請求項①~④のいずれか1つに記載の組成物。

⑥ ペプチド含有物質のアミノ酸組成において分枝鎖アミノ酸が10モル%以上で芳香族アミノ酸が2モル%以下である請求項①~⑤のいずれか1つに記載の組成物。

⑦ ペプチド含有物質が下記のアミノ酸組成を有するものである請求項①~⑥のいずれか1つに記載の組成物。

アミノ酸組成	(モル%)
アスパラギン酸	3.0~8.7
スレオニン	2.1~6.2
セリン	3.4~9.6
グルタミン酸	10.9~30.4

特開平3-251153(2)

グリシン	1.9 ~ 4.5
アラニン	8.0 ~ 26.4
バリン	3.5 ~ 6.2
システイン	0.0 ~ 0.1
メチオニン	0.4 ~ 6.5
イソロイシン	0.9 ~ 6.5
ロイシン	4.4 ~ 47.5
チロシン	0.1 ~ 2.0
フェニルアラニン	0.0 ~ 1.6
リジン	1.3 ~ 2.8
ヒスチジン	1.0 ~ 2.5
アルギニン	1.3 ~ 2.1
プロリン	2.9 ~ 6.0

- ⑧ ペプチド含有物質が、固形分中、ペプチド50～92重量%、炭水化物5～20重量%、アミノ酸0～25重量%、その他3～5重量%を含有するものである請求項①～⑦のいずれか1つに記載の組成物。

ロイシン、イソロイシンなどの分枝鎖アミノ酸(BCAA)の低下が認められたことから、アミノ酸の代謝異常が肝性脳症発現の主因であると報告した。そして、アミノ酸の代謝異常により生じた血漿中のアミノ酸インバランスを是正することにより肝性脳症を改善させることを目的として、芳香族アミノ酸を制限し、分枝鎖アミノ酸の含量を増加させたアミノ酸輸液(フィッシャー液)が開発された。このアミノ酸輸液は肝性脳症患者の覚醒効果に優れていることから、その有用性は高く評価され、広く臨床応用されている。

肝性脳症覚醒後の肝硬変患者は肝性脳症の再発防止と栄養状態の改善が望まれるが、たとえ低アルブミン血症を呈する時期といえども前者に重点を置いた蛋白質量制限の食事療法が余儀なくされ、このような従来の療法では肝性脳症につながる血漿中のアミノ酸インバランスの是正を計ることはもちろん栄養状態の改善も期待出来ず、患者自身

発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、栄養補給組成物に関し、更に詳しくは、肝臓病患者用、筋ジストロフィー症患者用、及び生体侵襲時用の栄養補給乃至治療食として特に好適な栄養補給組成物に関する。

従来の技術及びその課題

肝硬変などの慢性肝不全患者の場合、肝内外の短絡路形成と肝機能障害によって体内に生じた有毒物質は肝実質をバイパスするために解毒が困難となり、また物質代謝の異常も加わって、ついには脳内の代謝異常をひき起こして昏睡状態に陥り易いとされている。

1974年、フィッシャーは重症肝疾患患者の血漿中アミノ酸濃度を測定したところ、とくに肝硬変の肝性昏睡患者ではフェニルアラニン、チロシン、遊離トリプトファンなどの芳香族アミノ酸(AAA)やメチオニンの著明な増加とバリン、

の身体活動性を高める迄には至らない。更に、蛋白質量の摂取が長期にわたって制限された場合にはますます低アルブミン血症を悪化させることになる。

肝硬変患者の場合、積極的な回復を計るためには本来は高カロリー、高蛋白、高ビタミン食が望ましいとされている。従って、肝性脳症症状を有するか、発現の恐れのある肝硬変患者では肝性脳症の治療あるいは予防のみでなく、栄養面からの配慮も患者管理上、きわめて重要である。栄養管理が不十分な場合、常に肝性脳症発現の危険性にさらされるわけである。このような意味合いから輸液による管理にはおのずと限界があり、肝性脳症覚醒後の維持療法用に肝性脳症症状の改善と栄養状態の改善という両面に寄与する製剤の開発が熱望されていた。

このような観点から、肝臓病患者等に対して、血漿中のアミノ酸インバランスの是正及び栄養状態

特開平3-251153 (3)

の改善を目的として、フィッシャーの理論に準じて、芳香族アミノ酸を制限し、分枝鎖アミノ酸含量を高くし、更に、各種栄養素を配合した栄養補給剤の検討がなされている。しかしながら、このような栄養補給剤は、蛋白源として、アミノ酸を使用するために浸透圧が高すぎる難点があり、経口摂取した場合に下痢の発生が認められる。更に、アミノ酸特有の異臭や苦みがあり、この点も問題となる。

一方、筋ジストロフィー症(PMD)とは、筋肉自身に原発性の病気を有する疾患の一群で、主に骨格筋の進行性変性を特徴とし、遺伝的基盤のもとに発症する疾患である。筋ジストロフィー症患者における血液中アミノ酸組成を調べるとタンパク質摂取充足率が必ずしも悪くない場合においても、低栄養状態の指標である必須アミノ酸と非必須アミノ酸の比(E/N比)が低下しており、タンパク質アミノ酸代謝の異常が考えられる。また、

正常なヒトに比べて血中の分枝鎖アミノ酸濃度が低いことが報告されており(平野久美子、大阪市立大学生生活科学部紀要、34:253-259、1986)、この報告からは血液中における分枝鎖アミノ酸濃度を向上させる必要性が示唆される。更に、筋ジストロフィー症のうちで、筋萎縮性側索硬化症(ALS)患者については、分枝鎖アミノ酸補給により筋力の低下抑制効果が認められたという報告がある(Plasilakis A, et al: Lancet, May 7:1015-1018、1988)。

筋ジストロフィー症患者の延命のためには、エネルギー及びタンパク質の補給を充分に行い、体重減少を遅らせるようにする必要があるが、咬合障害などをもつ患者に食事量を増やすことは容易ではなく、単回における高エネルギー、高タンパク質の補給が必要である。

また、ストレス負荷時、特に外科的侵襲・創傷

・熱傷・敗血症時などの生体侵襲時の代表的な代謝変化は、タンパク質代謝の異化亢進である。すなわち骨格筋・内臓平滑筋・皮下膠原組織などの体タンパク質が分解され、エネルギー源として消費されると同時に、回復に必要な急性期タンパク質(フィブリノーゲン・ハプトグロビン・ライソソーム酵素等)の生合成に再利用されるが、全体的にはタンパク質分解に傾いている。この結果、尿中窒素排泄量が増大し、窒素平衡は負の値を呈して体重減少をきたし、回復力を弱めることになる。

ゴールドバーグ(A. L. Goldberg)らは主として筋肉でよく利用される分枝鎖アミノ酸(BCAA)に着目し、ラットの横隔膜筋を用いた一連のin vitroの実験で、BCAAに筋タンパク質の分解抑制作用あるいは合成促進作用があることをはじめて報告した。

ブラックバーン(G. L. Blackburn)らやフ

ィッシャー(J. E. Fischer)らは1970年代終りから種々の侵襲モデル動物を用い、BCAA配合比を高くしたアミノ酸輸液を投与することによって、ストレス負荷時のタンパク質代謝を改善できることを示した。

これらの試験の結果をもとに、1980年代に入ってBCAA高濃度含有アミノ酸輸液が試作され、臨床での検討が行われて臨床的にもストレス負荷時において著明な栄養学的効果が確かめられた。

これらの知見より、筋ジストロフィー症患者用又は生体侵襲時用の栄養補給用として、分枝鎖アミノ酸含量の多い栄養食品の開発が望まれるが、前述した様に、従来の蛋白源としてアミノ酸を配合した栄養補給剤は、浸透圧が高すぎる点やアミノ酸特有の異臭、苦味等の点が問題となり、ヒト用の経口栄養剤としては不向きである。

本発明は、上記従来技術の問題点に鑑みてな

れたものであり、その目的は、経口及び経管等の経腸的投与が可能で、消化吸収が生理的に行なわれ、浸透圧の高いことによる下痢の発生が回避でき、しかも刺激や異味臭のない栄養補給組成物であって、該組成物の摂取により、血液中のアミノ酸インバランスが是正され、しかも栄養状態の改善を図ることのできる栄養補給用組成物を提供することである。

課題を解決するための手段

本発明者は、上記目的を達成するため、鋭意研究を重ねてきた。その結果、とうもろこしタンパク質を含有する原料から、特定の処理によって、分子量200～4000のペプチドを主成分とし、アミノ酸組成において、分枝鎖アミノ酸を豊富に含有し、かつ芳香族アミノ酸をほとんど含まないペプチド含有物質を得ることができることを見出し、これに基づき該ペプチド含有物質を所定量配合し、かつ蛋白源としての窒素化合物、炭水化

族アミノ酸が全アミノ酸に対して3.6モル%以下であるペプチド含有物質を乾燥重量基準で5～20重量%含有する組成物であって、該組成物における蛋白源としての窒素化合物、炭水化物及び脂質の含有量が、乾燥重量基準で、窒素化合物15～40重量%、炭水化物50～70重量%及び脂質0～15重量%であることを特徴とする栄養補給組成物、

上記組成を有する肝疾患患者用栄養補給組成物、

上記組成を有する筋ジストロフィー疾患患者用栄養補給組成物、並びに

上記組成を有する生体侵襲時用栄養補給組成物を提供するものである。

以下、本発明の栄養補給組成物について詳述する。

本発明組成物を構成する蛋白源としての窒素化合物は、とうもろこしタンパク質由来の特定のペプチド含有物質を所定量含む限り、他は公知の各

特開平3-251153(4)

物及び脂質の配合量を所定比率となるように調整した組成物は、上記目的に合致する栄養補給組成物として有効であることを見出した。そして、該組成物の利用により、血漿中のアミノ酸パターン及び分枝鎖アミノ酸/芳香族アミノ酸のモル比(フィッシャー比)が是正されて、肝性脳症症状が改善され、しかも栄養状態改善効果も十分に奏され、更には、筋ジストロフィー症患者の栄養状態を良好に保ち、病状の進行を遅延させ、合併症、続発症に対する抵抗性を高めて、延命を図ることが可能となることを見出した。更に、上記栄養補給用組成物の投与により、生体侵襲時の体タンパク質分解の抑制、タンパク質合成の促進の効果が奏されることも見出した。本発明は、これらの知見に基づいて完成されたものである。

即ち本発明は、とうもろこしタンパク質を酵素で加水分解して得られる分子量200～4000のペプチドを含有し、アミノ酸組成において芳香

種の蛋白質原料、アミノ酸等のいずれでもよい。該蛋白質原料としては、例えばカゼイン及びカゼインナトリウム、カゼインカルシウム等の塩類並びに之等カゼイン類の酵素分解物、大豆蛋白、小麦蛋白酵素分解物等を例示できる。また、アミノ酸としては、バリン、ロイシン、イソロイシン等の分枝鎖アミノ酸が好ましい。これらの窒素化合物は、1種単独でも2種以上混合しても利用できる。

蛋白源としての窒素化合物は、栄養効果の点から、アミノ酸スコアを向上させるように配合することが好ましい。

また、本発明組成物を、筋ジストロフィー疾患患者用栄養補給組成物として用いる場合には、従来、筋ジストロフィー症治療薬として用いられていタウリンを配合することが好ましい。

本発明組成物に配合するペプチド含有物質について説明すれば以下の通りである。

特開平3-251153(5)

すなわち、該ペプチド含有物質は、とうもろこしタンパク質を酵素で加水分解して得られる分子量200~4000のペプチドを含有し、アミノ酸組成において芳香族アミノ酸が全アミノ酸に対して3.6モル%以下とされていることを特徴とするものである。

また、本発明で用いるペプチド含有物質の製造方法は、とうもろこしタンパク質を含有する原料を生澱粉分解酵素で処理して澱粉を分解、除去する第1工程と、この処理物を高アルカリ下に加熱処理する第2工程と、高アルカリプロテアーゼで加水分解する第3工程と、芳香族アミノ酸を除去する第4工程とを含むことを特徴とするものである。

また、上記製造方法において、高アルカリプロテアーゼで加水分解する第3工程の後に、中性プロテアーゼ及び/又は酸性プロテアーゼを用いて加水分解する第4工程を行ない、その後、芳香族

られるとうもろこしタンパク質懸濁液、例えばコーングルテンミール懸濁液や、コーングルテンリカーやとうもろこしタンパク質から70%の含水アルコール又はアルカリにて溶出してくるツェインなどが好ましく用いられる。これらのタンパク質懸濁液を原料とする場合、その固形分濃度は5~15重量%程度に調製することがより好ましい。

本発明で用いるペプチド含有物質の製造方法では、第1工程として、これらの原料を予め生澱粉分解酵素で処理して澱粉を分解、除去する。好ましい態様によれば、上記植物性タンパク質の懸濁液に、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム等のアルカリを添加して、pH5~6程度に調整し、生澱粉分解酵素、例えば「デピアーゼ」（商品名、ダイキン工業製）を原料固形分当たり0.02~0.2wt%添加して、50~60℃にて3~20時間攪拌して反応させ、脱水、ろ過することにより行なわれる。

アミノ酸を除去する第5工程を行なうようにしてもよい。

なお、上記において分枝鎖アミノ酸(BCAA)とは、ロイシン、イソロイシン、バリン等を意味し、芳香族アミノ酸(AAA)とは、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン等を意味している。

以下、本発明で用いるペプチド含有物質について好ましい態様を挙げて更に詳細に説明する。

上記ペプチド含有物質の調製において、とうもろこしタンパク質としては、とうもろこしタンパク質及び/又はとうもろこしタンパク質を構成しているプロラミン系タンパク質のツェイン

(Zein)が、構成アミノ酸に分枝鎖アミノ酸、特にロイシンの含量が高いので好ましく用いられる。このとうもろこしタンパク質としては、コーンスターチの製造過程において、とうもろこしからウェットミリング(湿式亜硫酸浸漬)を経て得

次に、第2工程として、この処理物を固形分濃度5~20wt%、好ましくは10~15wt%になるように再懸濁し、この懸濁液に水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等のアルカリを添加して、好ましくはpH12以上に調節し、100~130℃にて、5~30分加熱処理する。この処理によって、植物性タンパク質を変性させ、プロテアーゼによるアタックをしやすくすることができる。

次に、第3工程として、上記懸濁液を30~60℃、より好ましくは50℃前後まで冷却し、高アルカリプロテアーゼを原料固形分当たり0.2~2wt%添加し、10分~24時間、より好ましくは1~2時間反応させる。この処理によって植物性タンパク質が適当な長さに加水分解される。

この場合、高アルカリプロテアーゼとしては、例えば堀越らの「Agric. Biol. Chem. 35(9), 1407~1414」に報告されている好アル

特開平3-251153(6)

カリ性細菌(Bacillus, No. 221)由来のアルカリプロテアーゼ(名糖産業製)や、好アルカリ性変異株由来の「エスペラーゼ8.0L」、「サビナーゼ8.0L」(商品名、ノボ社製)などが好適である。これらの高アルカリプロテアーゼは、酵素作用の最適pHが10~12であり、耐熱性に優れており、通常はエンド型の酵素である。

次に、第4工程として、この懸濁液に、必要に応じて塩酸等の酸を添加して、pH 8~5.5、好ましくは7前後の中性、又はpH 5.5~3.0、好ましくは3.5~4.0の酸性に調整する。そして、pH 8~5.5にした場合は中性プロテアーゼを、pH 3.5~4.0にした場合は酸性プロテアーゼを、原料固形分当たり0.2~2wt%添加し、酵素の至適温度、例えば30~60℃、より好ましくは50℃前後で、10分~24時間、より好ましくは2.0~2.4時間反応させる。この場合、中性又は酸性プロテアーゼは、

エキソ型であることが好ましい。この処理によって、植物性タンパク質の加水分解率を更に高めることができるとともに、芳香族アミノ酸を遊離型アミノ酸に変換できる。また、ペプチドの分子量を高めるためには、この第4工程を省略してもよい。

なお、上記中性又は酸性のエキソ型プロテアーゼとしては、アミノペプチダーゼやカルボキシペプチダーゼ、ジペプチジルペプチダーゼ等があり、いずれのペプチダーゼでもよいが、例えば「プロテアーゼA及びM」(商品名、天野製薬製、「スミチームAP、MP、LP」(商品名、新日本化学工業製)などが好適である。

更に、上記第4工程を省略した場合には第4工程、上記第4工程を行なった場合には第5工程として、植物性タンパク質の酵素加水分解物から芳香族アミノ酸を除去する。除去する方法の1つとして、吸着剤を用いる方法が採用できる。吸着

剤としては、例えば活性炭や各種の吸着樹脂を用いることができる。より好ましくは、ポリスチレン系吸着樹脂、例えば「ダウエックスS-112」(商品名、ダウケミカル製)を塩酸にて活性化させた吸着剤を用い、この吸着剤を充填したカラムに酵素加水分解物を通し、酸性側にて溶出させる。その他、吸着樹脂としては、例えば特開昭60-136543号に開示されているような樹脂を用いることもできる。

上記吸着物質のうち活性炭は、微酸性のタンパク質酵素加水分解物中の着色物質や芳香族アミノ酸を吸着する性質がある。また、ポリスチレン系吸着樹脂は、数多くのベンゼン環を持っており、樹脂側のベンゼン環と芳香族アミノ酸のベンゼン環が疎水結合する。したがって、これらの吸着剤を用いることにより、芳香族アミノ酸を選択的に吸着して除去することができる。

また、これらの吸着剤のみでは、芳香族アミノ

酸、特にチロシンの除去が不十分であるため、チロシンの溶解度の低い特性を利用し、等電点沈澱法等によりチロシンを分離除去することによって、さらに芳香族アミノ酸を低下させることができる。

本発明で用いるペプチド含有物質は、上記各工程を経て得られるが、製品化に際しては、必要に応じて、最後の工程の処理液を濃縮し、pHを調整した後、酸処理やアミダーゼ、デアミナーゼ等の酵素処理により苦味を軽減し、イオン交換膜やイオン交換樹脂等により脱塩処理し、更に活性炭で処理し、蒸発乾固して粉末化することが好ましい。ただし、用途によっては、溶液のまま用いることもできる。

本発明で用いるペプチド含有物質は、植物性タンパク質を上記のように酵素で加水分解したものからなり、分子重量分布200~4000、平均分子重量500~2000程度のペプチドを含有している。

このペプチド含有物質中の成分は、好ましい例として、固形分中ペプチド50～92重量%、炭水化物5～20重量%、アミノ酸0～25重量%、その他3～5重量%からなっている。

また、本発明で用いるペプチド含有物質は、アミノ酸組成において芳香族アミノ酸が全アミノ酸に対して3.6モル%以下とされている。

好ましい態様においては、アミノ酸組成において分枝鎖アミノ酸(BCAA)/芳香族アミノ酸(AAA)のモル比が10以上、より好ましくは20以上とされている。

更に好ましい態様においては、アミノ酸組成において分枝鎖アミノ酸が10モル%以上で芳香族アミノ酸が2モル%以下とされている。

本発明で用いるペプチド含有物質は、その好ましい例として次のようなアミノ酸組成を有している。

アミノ酸組成 (モル%)

アスパラギン酸	3.0～8.7
スレオニン	2.1～6.2
セリン	3.4～9.6
グルタミン酸	10.9～30.4
グリシン	1.9～4.5
アラニン	8.0～26.4
バリン	3.5～6.2
システイン	0.0～0.1
メチオニン	0.4～6.5
イソロイシン	0.9～6.5
ロイシン	4.4～47.5
チロシン	0.1～2.0
フェニルアラニン	0.0～1.6
リジン	1.3～2.8
ヒスチジン	1.0～2.5
アルギニン	1.3～2.1
プロリン	2.9～6.0

本発明組成物を構成する炭水化物は、上記ペプ

チド含有物質に含まれるものの他、公知の各種のものいづれでもよく、例えば、グルコース、マルトース、蔗糖、イソマルトース、マルトテトラオース、マルトトリオース、マルトペンタオース、マルトヘキサオース、乳糖、グリコーゲン、デキストリン、デンプン等の単糖類、オリゴ糖類、食物繊維、多糖類等を例示できる。

また、本発明組成物を構成する脂質としては、上記ペプチド含有物質に含まれるものの他、従来公知の各種のもの、例えば米油、綿実油、コーン油、大豆油、ヒマワリ油、カカオ脂、ゴマ油、サフラワー油、落花生油、バター、ラード、ヤシ油、ナッツ油、パーム油、菜種油、中鎖脂肪酸(MCT)等の動植物油のいづれでもよく、特に植物油が好ましい。

本発明組成は、上記したペプチド含有物質を下記の所定量含有するものであって、蛋白源としての全窒素化合物、炭水化物及び脂質の3者の含有

割合が下記のとおりであることが重要である。

即ち、上記ペプチド含有物質の配合量は、本発明組成物の乾燥重量基準で5～20重量%、好ましくは10～15重量%とするのがよい。また、蛋白源としての全窒素化合物、炭水化物及び脂質の配合割合は、本発明組成物の乾燥重量基準で、窒素化合物15～40重量%、炭水化物50～70重量%及び脂質0～15重量%とすればよく、好ましくは窒素化合物20～30重量%、炭水化物58～65重量%、及び脂質3～10重量%とすればよい。本発明組成物中の窒素化合物、炭水化物及び脂質の各成分の含有量は、上記ペプチド含有物質中に含まれる成分及びその他に添加する成分の合計量である。

本発明組成物を上記した配合割合とすることによって、血液中のアミノ酸バランスの是正とともに栄養状態を改善することができる。

本発明組成物は、上記3者を必須成分として含

特開平3-251153(8)

有する他に、必要に応じて通常の各種添加物を更に含有することができる。該添加物としては、例えば各種ビタミン類（ビタミンA、ビタミンB₁、ビタミンB₂、ビタミンB₆、ビタミンB₁₂、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、ナイアシン、葉酸、パントテン酸等）、ミネラル類（カルシウム、鉄、カリウム、ナトリウム、マグネシウム、リン、クロール等の塩類等）、合成香料及び天然香料等の香料、天然甘味剤（ソーマチン、ステビア等）及び合成甘味剤（サッカリン、チクロ等）等の甘味料、着色料、乳化剤、安定剤、防腐剤等をそれぞれ例示でき、之等はそれぞれ1種単独でも2種以上組み合わせても利用できる。

以上の各成分は、通常緊密に混合した粉末状態で防湿性袋、瓶、缶等内に密封して保存又は流通されるが、所望により飲料、ゼリー、顆粒剤、錠剤、カプセル剤等の形態に製剤化されてもよい。

かくして得られる本発明の栄養補給組成物は、

本発明の栄養補給組成物は、蛋白源として、主としてペプチドを含有するものであり、風味が良く、嫌な苦みが無く、消化管よりの吸収が急速かつ良好であり、浸透圧の高いことによる下痢の発生が回避される。また、配合されるペプチド含有物質は、アミノ酸組成において、植物性タンパク質に由来する分枝鎖アミノ酸を豊富に含有し、かつ芳香族アミノ酸量が非常に少ないものであり、肝臓病患者の血漿中のアミノ酸パターン及びフィッシャー比を有意に改善することができ、更に、蛋白源、炭水化物及び脂肪をバランスよく含有するため、栄養状態の改善を図ることができる。このため、本発明栄養補給組成物は、肝炎回復期、慢性肝炎あるいは肝硬変症の代償期治療食として、殊に劇症肝炎、慢性肝性脳症等の肝臓病患者の栄養補給乃至治療食として好適なものである。

また、筋ジストロフィー症患者においても、本発明組成物の摂取により血液中のアミノ酸インバ

これを適用する（摂取）するに当っては、常法に従い通常水で適当濃度に希釈して溶液もしくはゼリー状の形態とされる。これはまた必要に応じて加熱殺菌または加圧加熱滅菌等の処理を施される。上記希釈の程度は任意に決定できるが通常経管又は経口栄養液の形態に調製する場合、得られる栄養液が本発明組成物を約100～500g/l、好ましくは約150～250g/l含有するものとするのが好適である。上記栄養液は経口投与もしくは胃、十二指腸又は小腸に直接経管投与され、またゼリー状製剤は経口投与される。投与（摂取）量は投与すべき患者の疾患状態や目的とする治療乃至栄養改善効果等に応じて適宜に決定でき、一般には、1日一人当たり本発明組成物の乾燥重量で30～150g程度とするのが望ましい。

本発明組成物は患者の嗜好を考慮して、通常の食事と併用することもできる。

発明の効果

ランスが是正され、更に、患者の栄養状態を良好に保つことができ、病状の進行を遅延させ、合併症、続発症に対する抵抗性を高めて、延命を図ることができる。

更に、本発明組成物の投与により、生体侵襲時の体タンパク質分解の抑制及びタンパク質合成の促進の効果が奏され、栄養状態を良好に保つことができるので、生体侵襲時の栄養補給用としても好適である。

実施例

以下、参考例、実施例及び試験例を示して、本発明をより詳細に説明する。

参考例1

ウェットミリング工程から得られるとうもろこしタンパク質懸濁液（グルテンリカー）450gに水酸化カリウムを添加してpH5.5に調整し、生澱粉分解酵素として「ダビアーゼ」（商品名、ダイキン工業製）70gを添加し、攪拌下にて

特開平3-251153 (9)

50℃で16時間反応させた。懸濁液をフィルタープレスにて固液分離し、水溶性区分を除去し、とうもろこしタンパク質のウェットケーキ80kgを得た。このウェットケーキを蒸留水350ℓに再懸濁させ、攪拌下、80℃まで昇温した。次に、水酸化カリウムを添加してpHを12.0に調整し、125℃、5分間加熱処理した。

次に、懸濁液を50℃まで冷却し、好アルカリ性細菌(Bacillus No.221)由来の高アルカリプロテアーゼ(名糖産業製)80gを添加し、1.5時間反応させた。更に、懸濁液に塩酸を添加してpH7.0に調整し、中性プロテアーゼである「デナチームAP」(商品名、ナガセ生化学製)180gを添加し、50℃、20時間反応させた。反応液をフィルタープレスにかけて固液分離し、水溶性区分を濃縮しBx20、160ℓのとうもろこしタンパク質酵素加水分解物を得た。

上記加水分解物の一部を塩酸でpH4.0に調

整し、ポリスチレン系吸着樹脂「ダウエックスS-112」(商品名:ダウケミカル製)を塩酸にて活性化させた後、このカラムに上記加水分解物を通過させ芳香族アミノ酸の低い区分を分取した。この通過液を濃縮後、イオン交換膜(マイクロアライザー:旭化成製)にて脱塩後、活性炭処理し、凍結乾燥して全窒素14.30%、アミノ態窒素3.00%、糖分5.20%、灰分1.0%の組成からなり、芳香族アミノ酸に対する分枝鎖アミノ酸のモル比が38.3である白色粉末を得た。このアミノ酸組成を第1表に示す。

参考例2

上記参考例1における中性プロテアーゼ「デナチームAP」(商品名、ナガセ生化学製)を、酸性プロテアーゼ「プロテアーゼアミノM」(商品名、天野製薬製)に代え、そのときの反応pHを4に変えた以外は、参考例1と同様な操作を繰り返し、凍結乾燥して、全窒素13.50%、

アミノ態窒素2.95%、糖分5.00%、灰分1.2%の組成からなり、芳香族アミノ酸に対する分枝鎖アミノ酸のモル比が69.1である白色粉末を得た。このアミノ酸組成を第1表に示す。

参考例3

参考例2と同様な操作を行ない、吸着樹脂を通過し、芳香族アミノ酸の低い区分を分取し、pHを水酸化カリウムにて5.5に調整し、固形分濃度15%(Bx15)まで濃縮した。濃縮物を5℃にて冷却した後、析出したチロシンをろ過により除去し、以後参考例2と同様に脱塩、活性炭処理、凍結乾燥して全窒素13.8%、アミノ態窒素2.50%、糖分4.5%、灰分1.3%の組成からなり、芳香族アミノ酸に対する分枝鎖アミノ酸のモル比が28.5である白色粉末を得た。このアミノ酸組成を第1表に示す。

参考例4

参考例2と同様な操作を行ない、参考例3のチ

ロシンをろ過除去した画分を脱塩、活性炭処理後、Bx60まで濃縮した。白濁状濃縮物を遠心分離により沈殿区分と可溶性区分に分離し、沈殿区分はそのまま減圧乾燥し、全窒素13.5%、アミノ態窒素2.92%、糖分4.8%、灰分1.1%の組成からなり、芳香族アミノ酸に対する分枝鎖アミノ酸のモル比が46.1である白色粉末を得た。このアミノ酸組成を第1表に示す。

参考例5

参考例3と同様な操作を行ない、チロシンをろ過除去した画分を陽イオン交換樹脂及び陰イオン交換樹脂に通し、溶出区分を分取しpHを水酸化カリウムにて4.0に調整し、以後、参考例1と同様に脱塩、活性炭処理、凍結乾燥して、全窒素14.0%、アミノ態窒素0.90%、糖分5.0%、灰分1.0%の組成からなり、芳香族アミノ酸に対する分枝鎖アミノ酸のモル比が25.6である白色粉末を得た。このアミノ酸組

特開平3-251153 (10)

成を第1表に示す。

参考例6

参考例1における高アルカリプロテアーゼによる酵素反応まで同様な操作を行ない、反応液に塩酸を添加してpH5.5に調整した。反応液をフィルタープレスにかけて、固液分離し、水溶性区分をB×15まで濃縮し、230gのとうもろこしタンパク質酵素加水分解物を得た。

次に参考例1と同様に吸着樹脂を通過させた区分を陽イオン交換樹脂及び陰イオン交換樹脂に通し、溶出区分を分取し、pHを水酸化カリウムにて5.5に調整し、脱塩、活性炭処理、凍結乾燥して、全窒素14.1%、アミノ態窒素0.55%、糖分4.8%、灰分0.9%の組成からなり、芳香族アミノ酸に対する分枝鎖アミノ酸のモル比が21.1である白色粉末を得た。このアミノ酸組成を第1表に示す。

なお、第1表には、芳香族アミノ酸の一種であ

るトリプトファンのデータが記載されていないが、これはトリプトファンがほとんど含まれていなかったためである。

第 1 表

	試験値	参 考 例 (モル%)					
		1	2	3	4	5	6
アスパラギン酸	5.3	6.4	6.3	5.2	3.0	8.6	5.3
スレオニン	3.2	5.3	6.2	3.8	2.1	4.1	3.5
セリン	5.3	9.6	8.7	5.8	3.4	8.4	6.9
グルタミン酸	17.8	30.4	29.0	19.1	10.9	27.4	29.7
グリシン	4.5	2.2	3.0	3.2	1.9	3.5	2.7
アラニン	14.0	26.4	23.1	13.9	8.0	19.0	20.6
バリン	4.8	5.2	6.2	5.5	3.6	5.8	4.8
システイン	0.4	0.1	0.1	0.1	0	0	0.1
メチオニン	1.8	0.8	0.9	3.6	6.5	0.9	2.2
イソロイシン	4.2	0.9	1.2	4.6	5.4	3.7	2.0
ロイシン	15.8	5.6	4.4	23.1	47.5	10.0	15.8
チロシン	2.4	0.2	0.2	0.7	0.7	0.5	0.7
フェニルアラニン	4.9	0	0	0.3	0.3	0.2	0.3
リジン	1.5	1.6	2.8	1.9	1.0	1.4	0.5
ヒスチジン	1.4	1.0	1.7	1.6	0.8	1.1	0.9
アルギニン	2.1	1.2	2.0	1.8	1.0	1.3	0.8
プロリン	10.6	3.1	6.0	5.7	3.3	3.6	3.1
BCAA/AAA (モル%)	3.4	58.5	59.0	33.2	56.5	27.9	22.6

第1表の結果から、参考例1～6で得られた酵素加水分解物は、アミノ酸組成において、芳香族アミノ酸（フェニルアラニン、チロシン）に対する分枝鎖アミノ酸（ロイシン、イソロイシン、バリン）の割合が著しく高くなっていることがわかる。また、参考例3～6では、出発物質と同等あるいはそれ以上の割合で分枝鎖アミノ酸が含まれていることがわかる。また、全窒素が14とタンパク含量が高く、しかもアミノ態窒素も3.0以下であるため、ペプチドの多いものであることがわかる。

参考例7

参考例1及び3で得られたペプチド組成物を、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）にかけて分析を行ない、上記ペプチド組成物の分子量分布をそれぞれ求めた。

分離カラムとして「OH Plus KB-802, 5」（商品名、昭和電工製）を用い、0～1%

特開平3-251153 (11)

トリフルオロ酢酸-40%アセトニトリル系の溶離液を用い、流速0.5ml/minとし、検出器はUV210nmとして分析を行なった。また、標準試料として、チロクロームC (MW≒10,000)、オリゴペプチドであるGly-Gly-Gly (MW≒189.2)、Gly-Gly (MW≒132)、及び遊離アミノ酸であるチロシン (MW≒181.2)、フェニルアラニン (MW≒165.2)を用いた。

参考例1のペプチド組成物の分析結果を第1図に、参考例3のペプチド組成物の分析結果を第2図に示す。図において、上記標準試料の溶出位置をそれぞれ矢印で示してある。

第1図及び第2図では、遊離アミノ酸とペプチドとの完全な分離同定はなされていないが、ペプチドの最低分子量が通常200前後であることを考慮すると、参考例1及び3のペプチド組成物に含まれるペプチドの分子量は200~4000の

範囲にあることがわかる。

実施例1

上記参考例で得たペプチド含有物質を用いて、乾燥重量100g当り下記第2表の組成(g)となるように、各成分を混合して、本発明栄養補給組成物を調製した。

第2表

成分	参考例			
	1	2	3	4
ペプチド含有物質	15	13.5	18.0	6.75
大豆ペプチド	8	13.5	9.0	20.25
カゼイン				
ゼラチン				
トリプトファン				
タウリン	3			
バリン				
ロイシン				
イソロイシン				
メチオニン	55	62.1	62.1	62.1
食物繊維				
オリゴ糖	5			
精製白質				
米	5	7.0	7.0	3.0
中鎖脂肪酸	4			
ビタミン・ミネラル	適量	適量	適量	適量

第2表(続き)

成分	参考例			
	5	6	7	8
ペプチド含有物質	15.0	15.0	18	15
大豆ペプチド				
カゼイン	20.0	15.0	8	6
ゼラチン				4
トリプトファン				
タウリン			3	3
バリン				
ロイシン				
イソロイシン				
メチオニン	40	60	45	50
食物繊維	10		5	5
オリゴ糖	10		5	5
精製白質				
米	3.0	4.0	3	4
中鎖脂肪酸		3.0	3	4
ビタミン・ミネラル	適量	適量	適量	適量

表 2 表 (続 ぎ)

試 料	9	10	11	12
	参考例 3	参考例 4	参考例 5	参考例 6
ペプチド含有物質	12	20	10	10
大豆ペプチド	3		5	
カゼイン	8	12	5	10
ゼラチン		3		5
トリプトファン				
タウリン	3	3	3	3
バリン		0.1	0.1	0.5
ロイシン		0.1	0.1	0.5
イソロイシン		0.1	0.1	0.5
米デキストリン	45	50	45	50
食物繊維	5	5	5	5
オリゴ糖	5	5	5	3
精製白糖	5			
植物油	6	4	2	3
中鎖脂肪酸	4	2	2	3
ビタミン・ミネラル				
その他				

360分にエーテル麻酔下で下大動脈より採血を行った。血液は直ちに遠心分離を行い血漿を-80℃で保存した。

アミノ酸分析用試料は、血漿200μlに6%スルホサリチル酸を等量混合して3000rpm10分遠心後、上清を1昼夜凍結させたものを解凍し、再び遠心にかけ、その上清を用いた。発色試薬は、和光純薬工業㈱製ニンヒドリン試薬L-8500セットを使用した。分離試薬は、三菱化成工業㈱製 MCI BUFFER L-8500-PFキットを使用した。アミノ酸分析器は、日立製作所製L-8500型高速アミノ酸分析計を用い、4.6mm I. D. ×60mmのカラムに日立カスタムイオン交換樹脂(#2622SC)を詰めて用いた。血中アミノ酸についての結果を第3図に示す。

尚、表中、アミノ酸については、IUPAC、IUBの規定或いは当該分野における慣用記号に

特開平3-251153 (12)

試 験 例

以下の試験例により、本発明組成物に含まれるペプチド含有物質によるアミノ酸パターン、フィッシャー比等の改善効果について、検討した。

試験例-1

ペプチド含有物質としては、コーングルテンを原料として、参考例1と同様にして調製したものをを用いた。アミノ酸組成及びその他の成分量は第3表に示す通りである。

6週齢のSD系雄ラットをBCAAペプチドI投与群(28匹:体重216.4±9.1g)、及びBCAAペプチドII投与群(19匹:体重218.4±9.8g)の2群に分け実験を行った。ラットを18時間絶食させ後、被験物を経口投与した。被験物はタンパク質量で1.35g/kgとし、10mlのイオン交換水に溶かしてカテテルを用いて投与した。投与前、投与後30分、60分、120分、180分、240分、および

従うものとし、その例を次に挙げる。またアミノ酸などに関し光学異性体がありうる場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

Leu:ロイシン、Ile:イソロイシン、Ala:アラニン、Glu:グルタミン、Thr:トレオニン、His:ヒスチジン、Ser:セリン、Gly:グリシン、Asn:アスパラギン、Arg:アルギニン、Asp:アスパラギン酸、Pro:プロリン。

特開平3-251153 (13)

第 3 表

(g / 素材 100 g)	BCAAペプチド I (コーングルテン由来)	BCAAペプチド II (コーングルテン由来)
Asp	5.4	3.1
Thr	3.8	2.3
Ser	5.3	3.4
Glu	25.0	17.8
Gly	1.5	0.7
Ala	11.4	7.3
Val	3.9	2.3
Cys	0.4	0.2
Met	2.4	1.4
Ile	2.3	1.4
Leu	12.1	8.7
Tyr	1.4	1.0
Phe	0.0	0.1
Trp	0.0	0.0
Lys	2.5	1.1
His	2.1	1.2
Arg	2.0	2.0
Pro	2.7	1.8
B C A A (g/飼料100g)	18.4	12.5
E / N 比	0.45	0.43
タンパク質 (%)	78.1	58.1
灰 分 (%)	—	—
糖 質 (%)	—	—
脂 質 (%)	—	—

これらの結果から、コーングルテン由来のペプチド含有物質の評価を行なったところ、血中の総アミノ酸濃度、BCAA濃度及びE/N比が高く、上記ペプチド含有物質は、栄養補給効果が高く、血中のアミノ酸パターン、フィッシャー比等を改善できることが判った。従って、これに、蛋白源としての窒素化合物、炭水化合物及び脂質をバランスよく配合した本発明組成物は、栄養補給効果が高く、肝疾患患者、筋ジストロフィー患者、及び生体侵襲時の栄養補給に特に有用なものであることがわかる。

試験例 II

6週令SD系雄性ラットに門脈下大静脈吻合手術(PCS手術)を行なった慢性肝不全モデルラット(A群、25匹)及び擬手術を行なった6週令SD系雄性ラット(B群、25匹)を2週間飼育した。

これらのラットについて、以下の方法でペプチド含有物質の単回投与による血漿遊離アミノ酸濃度及び脳内遊離アミノ酸濃度の推移を検討した。投与したペプチド含有物質は、下記第4表に示す通りである。

各群のラットを飼育後、A、B群各5匹を屠殺し、ペプチド含有物質を残りの各群に各1.35g/kg単回投与した。投与後15分、30分、60分、120分後に各群5匹づつを屠殺し、血漿遊離アミノ酸濃度、全脳内遊離アミノ酸濃度を試験例Iと同様にして測定した。結果を第4図及び第5図に示す。

第 4 表

(g / 素材 100 g)	BCAAペプチド III (コーングルテン由来)
Arg	3.03
Lys	1.78
His	2.23
Phe	0.38
Tyr	1.63
Leu	13.21
Ile	3.23
Met	2.23
Val	5.39
Ala	12.12
Gly	1.38
Pro	3.78
Glu	27.97
Ser	5.25
Thr	4.79
Asp	6.54
Trp	0.00
Cys	0.16
B C A A (g/飼料100g)	21.82
BACC/AAAモル比	15.11
水分 (%)	4.0
粗蛋白質 (%)	83.3
(アミノ態窒素) (%)	5.9
灰 分 (%)	0.9
その他の (%)	11.8

特開平3-251153 (14)

図面の簡単な説明

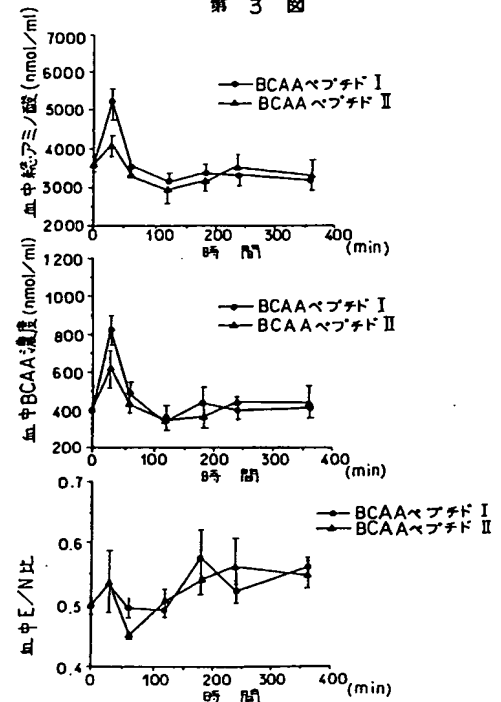
第1図は参考例1で得られたペプチド組成物を高速液体クロマトグラフィーにかけたときの溶出曲線を示す図表、第2図は参考例3で得られたペプチド組成物を高速液体クロマトグラフィーにかけたときの溶出曲線を示す図表、第3図は、試験例Iにおける血中アミノ酸濃度の時間的変化を表わすグラフ、第4図は試験例IIにおけるBCAA濃度の時間的変化を表わすグラフ、第5図は、試験例IIにおけるBCAA/AAR比の時間的変化を表わすグラフである。

(以上)

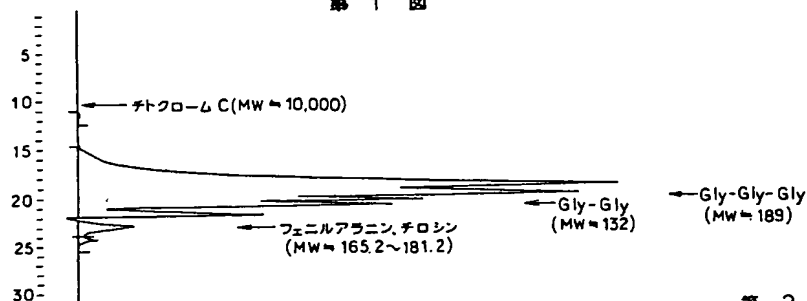
代理人 弁理士 三 枝 英 二



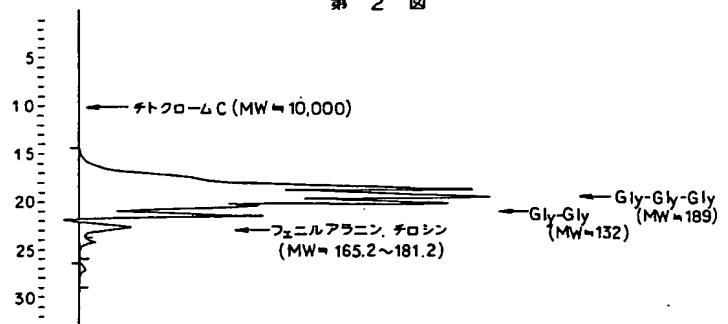
第 3 図



第 1 図

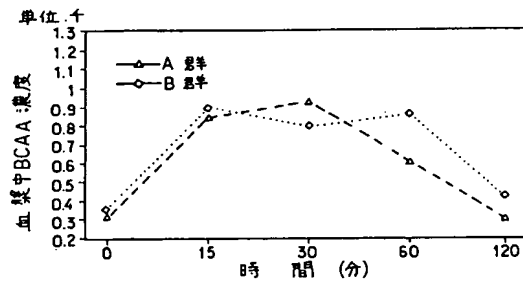


第 2 図

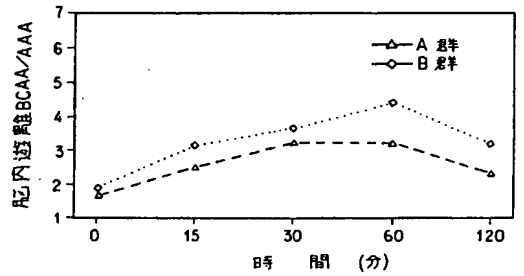
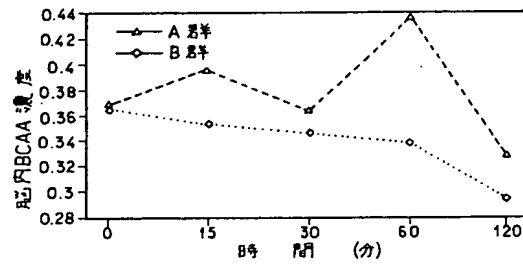
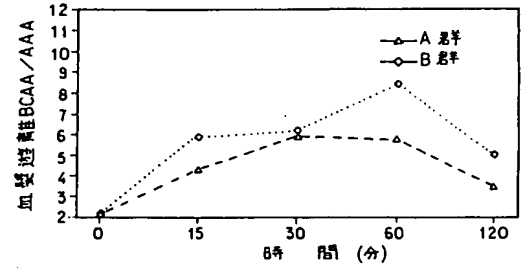


特開平3-251153 (15)

第 4 図



第 5 図



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS

☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☐ FADED TEXT OR DRAWING

☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.